Aus dem
Tierhygienischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
Direktor: Professor Dr. Trautwein.

Die Frischblutschnellagglutination zur Feststellung der Bruzellose des Rindes.

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Veterinärmedizin der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Vorgelegt von
Herbert Köbele
approb. Tierarzt aus Altenheim

München 1939

Gedruckt in der Dissertationsdruckerei von Robert Kleinert, Quakenbrück.

Aus dem
Tierhygienischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
Direktor: Professor Dr. Trautwein.

Die Frischblutschnellagglutination zur Feststellung der Bruzellose des Rindes.

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Veterinärmedizin der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Vorgelegt von
Herbert Köbele
approb. Tierarzt aus Altenheim

München 1939

Gedruckt in der Dissertationsdruckerei von Robert Kleinert, Quakenbrück.

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München.

Referent: Professor Dr. J. Paechtner

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern gewidmet!

Inhaltsverzeichnis.

A. Einleitung 7
B. Schrifttum 8
C. Eigene Untersuchungen 14
I. Technik 15
a) Schnellagglutination 15
b) Langsamagglutination 17
c) Komplementbindung 19
d) Flockungsreaktion nach Meinicke 20
e) Flockungsreaktion nach Sachweh 21
II. Material 22
III. Verlauf der Versuche 22
a) Ergebnisse in bruzellosefreien Gemeinden 22
b) Ergebnisse in bruzelloseverseuchten Gemeinden . . 24
c) Ergebnisse in infizierten Einzelbeständen 28
d) Uebersicht der Gesamtergebnisse 32
D. Besprechung der Ergebnisse 32
E. Zusammenfassung der Ergebnisse 35
F. Schriftverzeichnis 36
G. Lebenslauf 39

A. Einleitung.

Die Bangsche Krankheit des Rindes hat mit anderen chronisch verlaufenden Seuchen das Merkmal gemeinsam, daß sie für den Tierbesitzer und in hohem Maße auch für den Sachverständigen nicht leicht und häufig erst sehr spät erkennbar ist. Die Schwierigkeiten ihrer wirksamen Bekämpfung finden großenteils hierin ihre Begründung; auch hat man unter Berücksichtigung der schweren Erkennbarkeit der Seuche von der allgemeinen Einführung der Anzeigepflicht bisher abgesehen. Erst im vorgeschrittenen Zustand löst die Krankheit Erscheinungen aus, die das Vorliegen von Bruzellose vermuten lassen, für sich allein jedoch nicht beweiskräftig sind. Sehr viele Fälle dagegen verlaufen ohne äußerlich erkennbare klinische Merkmale, obwohl ein Teil auch dieser infizierten Tiere infolge Ausscheidung des Erregers für die Weiterverbreitung der Infektion eine große Gefahrenquelle darstellt. Sie sind nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse mit hinreichender Sicherheit nur durch die serologische Untersuchung von Blut- und unter Umständen Milchproben zu fassen, während der unmittelbare Erregernachweis auf bakterioskopischem, kulturellem und tierexperimentellem Wege viel weniger häufig zum Ziele führt. Auch in den Fällen mit klinischen Erscheinungen, wie Abortus, Zurückbleiben der Nachgeburt usw. ist im allgemeinen der Ausfall der serologischen Untersuchung für die Sicherung der Diagnose ausschlaggebend. Die Blutuntersuchung als Grundlage der Bruzellosebekämpfung wird infolgedessen heute in außerordentlich großem Umfang vorgenommen.

Zahlreiche Veröffentlichungen, besonders der letzten Jahre zeigen, daß an der Verbesserung der Untersuchungsverfahren, die wie alle biologischen Methoden mit Mängeln behaftet sind, dauernd gearbeitet wird. Die Mängel der serologischen Untersuchungen sind sowohl durch die Eigenart des Infektionsverlaufs und der Immunitätsbildung, wie durch gelegentliche technische Fehler bedingt. Es wird aber namentlich von seiten der Praxis vielfach auch als Nachteil angesehen, daß die Blutuntersuchung bisher ausschließlich im Laboratorium vorgenommen wurde und dadurch mit einer gewissen Umständlichkeit und für die Seuchenbekämpfung unerwünschtem Zeitverlust verbunden ist.

Das Bestreben ist deshalb verständlich, entweder die Blutuntersuchung so weitgehend zu vereinfachen, daß sie in der Praxis selbst

ausgeführt werden kann, oder sie durch andere, gleich zuverlässige diagnostische Verfahren zu ersetzen. Vor allem ist versucht worden, auch allergische Untersuchungsmethoden für den Nachweis der Bruzellose des Rindes nutzbar zu machen. Diese Bestrebungen befinden sich jedoch bis heute noch im Versuchsstadium (Zeller 40, Klimmer und Vogel 32). Im Gegensatz zum Rind haben die allergischen Reaktionen beim Menschen (Poppe 30, Curschmann 4), beim Pferd (van der Hoeden 19, Wolenk 39) und beim Schaf (Dubois und Sollier 10, Zrodowski 44) zu praktisch verwertbaren diagnostischen Erfolgen geführt.

Von vielen Untersuchern ist in den letzten Jahren sodann der andere Weg beschritten worden, die serologische Untersuchung zu einer auch unter praktischen Verhältnissen bequem und schnell durchzuführenden Reaktion zu vereinfachen. Den praktischen Bedürfnissen schienen am meisten die sog. Schnellagglutinationsmethoden zu entsprechen; sie sind deshalb gleichlaufend mit ähnlichen Versuchen zum Nachweis der Pulloruminfektion an vielen Stellen auf ihre praktische Verwertbarkeit geprüft worden. Eine einheitliche Auffassung über die Zweckmäßigkeit der Schnellagglutination wurde bisher nicht erzielt; namentlich fehlen beweiskräftige Versuche an einem größeren Material. Ich wurde deshalb beauftragt, an Hand eines möglichst umfangreichen Tiermaterials eine Nachprüfung über die Zuverlässigkeit und die Verwertbarkeit der Schnellagglutination unter praktischen Verhältnissen durchzuführen.

B. Schrifttum.

Die heute geübten Methoden der Schnellagglutination gehen auf Versuche zurück, die erstmalig zum Nachweis einer Infektion mit Erregern der Typhus-Paratyphusgruppe von amerikanischen Forschern (Bass und Watkins [1], Beven [2]) vorgenommen wurden Gleichfalls von amerikanischer Seite (Buneya [3]) wurde die Schnellmethode zuerst bei der Untersuchung von Hühnerblut zum Nachweis der Pulloruminfektion angewandt. Das Verfahren ist in Deutschland namentlich von Wagner (38), Mießner u. Berge (27), Mießner und Schütt (28), Steenblock (36), Kutzner (34) u. a. ausgebaut und empfohlen worden.

Während bei diesen Arbeiten fast ausschließlich die Reaktion mit dem Vollblut ausgeführt wurde, gingen die Versuche bei der Bruzellose zunächst von der Schnellagglutination des Serums aus. Die Serumschnellagglutination wurde zuerst 1928 von Huddleson und Carlson (20) beschrieben und in der Folge von Huddleson und Abell (21) vervollkommnet. Sie hat hauptsächlich in Amerika Ein-

gang gefunden. Ueber brauchbare Ergebnisse ist späterhin von Bevan (2), Damon (5), Lienhardt und Kitselmann (26), Graham und Thorp (16) berichtet worden, während andere Autoren, wie Gwatkin (18) sowie Donham und Fitsch (9), weniger günstige Befunde erzielten und in der Methode keinen Fortschritt erblickten.

Die Serumschnellagglutination wird auf Glasplatten mit einem Tropfen Serum bestimmter Verdünnung und einem Tropfen Testflüssigkeit unter geringgradigem Erwärmen vorgenommen. Die Reaktion ist positiv, wenn eine Ausflockung innerhalb 5 Minuten eingetreten ist. Besonderer Wert ist auf die mit dem Nephelometer zu messende Dichte der Bakterienabschwemmung zu legen. Die Zuverlässigkeit der Serumschnellagglutination wurde durch Vergleich mit der Serumlangsamagglutination bemessen.

Ueber Untersuchungen mit der Serumschnellagglutination an größerem Material hat in Deutschland zunächst Zeynelabidin (42) berichtet. Er verwendet für die Abschwemmung der Bangbakterien eine 10%ige Kochsalzlösung; nach seinen Erfahrungen geben dichte Teste, die zur Erzielung der gleichmäßigen Herstellung mit Bariumsulfatlösung verglichen werden, eine bessere und gleichmäßigere Reaktion als dünnere. 0,05 ccm Antigen werden mit 0,025 ccm Serum gemischt und bei einer Temperatur von etwa 25° C auf den Ausfall der Reaktion geprüft. Zeynelabidin hat auch einen heizbaren Kasten konstruiert, ähnlich wie er von verschiedenen Autoren für die Schnellagglutination zum Nachweis der Pulloruminfektion empfohlen wurde. Insgesamt hat er 446 Sera mit der Schnellagglutination und gleichzeitig mit der Langsammethode untersucht; die Ergebnisse stimmten in 93 % der Fälle bei den deutlich positiven und in 97 % der Fälle bei den deutlich negativen Seren überein. In verseuchten Beständen zeigte die Schnellreaktion mehr infizierte Tiere als die Langsamagglutination an. Zeynelabidin gibt jedoch der Langsamreaktion wegen ihrer größeren Zuverlässigkeit den Vorzug.

Auch Miller (29) hat Versuche mit der Serumschnellagglutination bei 946 Serumproben mitgeteilt. Er verwendete dabei die Testflüssigkeit Diernhofers und erzielte günstige Ergebnisse. Von 82 bei der Serumlangsamagglutination positiven Proben wurden 81 auch durch die Serumschnellagglutination erfaßt, während letztere übereinstimmend mit der Komplementbindung in 6 Fällen positiv verlief, in denen die Langsamagglutination versagte.

Die Serumschnellagglutination hat auf alle Fälle den Nachteil, daß sie zunächst die zeitraubende Gewinnung des Serums aus der Blutprobe erforderlich macht. Für die Bedürfnisse der Praxis erscheinen deshalb von vornherein die Methoden aussichtsreicher, die mit dem Vollblut angestellt werden. Bereits im Jahre 1921 hat Bevan (2) ein Verfahren angegeben, wobei in einem sog. Abortoskop 10 ccm

Bangbakterienaufschwemmung und 0,1 ccm Blut in einem Glasröhrchen vermischt werden; bei positivem Verlauf der Reaktion tritt eine Aufhellung des Gemisches ein, und der in dem Gefäß enthaltene Zettel mit der Aufschrift „infected" wird lesbar. Graham und Thorp (16) haben die Brauchbarkeit des Verfahrens bestätigt.

In Deutschland hat sich diese bei gehäuften Untersuchungen offenbar umständliche Reaktion nicht eingeführt; hier wurde die Frischblutschnellagglutination mit einem Tropfen Blut und einem Tropfen Testflüssigkeit durch Vermischen auf einem Glasplättchen vorgenommen. Die von den verschiedenen Autoren angegebenen Methoden unterscheiden sich hauptsächlich durch die Anwendung verschiedener Testflüssigkeiten sowie durch den teilweisen Zusatz eines gerinnungshemmenden Mittels.

Zunächst hat Ekrem (11) entsprechende Versuche zur Diagnose der Bruzellainfektion beim Meerschweinchen angestellt; seine Ergebnisse waren noch unsicher und unzulänglich, da nicht einmal alle Tiere erfaßt wurden, die bei der Langsamagglutination mit einem Titer von 1:800 positiv reagierten. Als Test benützte er eine Abschwemmung von Bangbakterienkulturen mit physiologischer Kochsalzlösung, die 48 Stunden bebrütet waren. Die Abschwemmung wurde durch sterile Watte filtriert und mit Zusatz von 0,5 ccm Formalin haltbar gemacht.

Auch Sandner (35) benützte die Frischblutschnellagglutination zur Diagnosestellung bei banginfizierten Meerschweinchen unter Verwendung der Testflüssigkeit nach Diernhofer. Die Reaktion ist in seinen Versuchen erst bei den Meerschweinchen positiv verlaufen, die Titer von mindestens 1:400 in der Langsamagglutination aufwiesen.

Zur Diagnose der Bruzellainfektion des Rindes ist die Frischblutschnellagglutination zuerst von David (6) vorgeschlagen worden. Er bezeichnet die richtige Herstellung des Antigens als ausschlaggebend für den Ausfall der Reaktion. Seine Testflüssigkeit wird aus 3 Bangbakterienstämmen gewonnen, die gut agglutinieren, auf 3%igem Traubenzucker-Pferdefleisch-Agar während 48 Stunden gezüchtet und sodann mit 0,5%iger Karbolkochsalzlösung abgeschwemmt werden (1 ccm auf je 1 Agarröhrchen). Nach 30 Minuten dauerndem Zentrifugieren wird die Hälfte der überstehenden Flüssigkeit weggegossen, der Rest wird 30 Minuten im Wasserbad gekocht, durch Gaze filtriert und mittels Zusatz von 3 ccm einer 1%igen alkoholischen Kristallviolettlösung zu je 100 ccm Bakterienaufschwemmung gefärbt. Die Testflüssigkeit soll nicht alsbald gebraucht, sondern zunächst einige Tage im Eisschrank aufbewahrt werden; bei kühler Außentemperatur muß sie vor Gebrauch auf eine Temperatur von 16—32° C gebracht werden. David verwendet für die Reaktion Objektträger, die gleichfalls auf Zimmertemperatur erhitzt werden müssen, und auf denen eine Oese Blut und eine Oese Testflüssigkeit gut vermischt und 5 Minuten lang beobachtet werden. In seinen Versuchen waren 86 % der bei der Lang-

samagglutination positiv reagierenden Rinder auch bei der Schnellagglutination positiv. Die mittels der Langsamagglutination negativ reagierenden Tiere reagierten zu 93 % auch bei der Schnellagglutination negativ. David empfiehlt die Schnellagglutination nur unter Ergänzung durch andere serologische Untersuchungen.

Besonders eingehend hat sich Diernhofer (7, 8) mit der Frischblutschnellagglutination befaßt; auch ist die von ihm eingehend ausgearbeitete und beschriebene Methode von einigen Untersuchern neuerdings der Nachprüfung unterzogen worden. Diernhofer benützt eine mit Methylviolett gefärbte und mit Beize nachbehandelte Testflüssigkeit von konstanter Bakteriendichte, macht jedoch keine genaueren Angaben über die Herstellung des Testes. Neuerdings hat Diernhofer zur Gewährleistung einer einheitlichen Ausführung der Probe ein Besteck zusammenstellen lassen, das von der Firma Jetter u. Scherer A.-G. in Tuttlingen vertrieben wird, und alle für die Ausführung der Diernhoferschen Reaktion erforderlichen Instrumente und Flüssigkeiten enthält. Diernhofer vermeidet Störungen beim Ablauf der Reaktion und beim Ablesen des Ergebnisses durch Zusatz eines Tropfens Oxalatlösung zu dem Blutstropfen. Das Blut gewinnt er durch Anstechen einer kleinen Vene an der Außenfläche der Ohrmuschel mittels der Löffellanzette nach Schütt; das austretende Blut wird aufgelöffelt und nach Abwischen des an der Unterseite des Löffels herabhängenden Tropfens auf eines der in dem Besteck enthaltenden Glasplättchen gebracht, auf dem sofort die Vermischung mit je einem Tropfen Oxalatlösung und Testflüssigkeit erfolgt. Die genaue Tropfenabmessung wird mittels beigegebener Tropfpipetten vorgenommen. Das Gemisch soll dabei auf eine ovale Fläche von etwa 2×3 cm ausgebreitet werden; durch leichtes Hin- und Herneigen der Glasplatte wird der Reaktionsverlauf beschleunigt; die Beobachtung erfolgt auf weißem Untergrund etwa 20—30 Sekunden unter anschließender Erwärmung mit der Kerzenflamme. Positive Reaktionen sind am Auftreten blauer Flocken zu erkennen, die sich kranzförmig am Rande ansammeln, während die übrige Flüssigkeit hellrot durchsichtig aussieht. Die Agglutination tritt vielfach bereits innerhalb weniger Sekunden ein; bei langsamerem Verlauf empfiehlt Diernhofer eine Erhitzung der Probe mit der Kerzenflamme und endgültige Ablesung nach 3 Minuten. Für die Fälle, in denen die Zuverlässigkeit der positiven Ergebnisse noch besonders erhärtet werden soll, wird von Diernhofer eine sog. Sicherungsprobe vorgeschlagen, wobei 2 Tropfen Test und 2 Tropfen Oxalatlösung mit nur einem Tropfen Blut vermischt werden. Umgekehrt soll eine weitere Sicherungsprobe zur Erhärtung des negativen Ergebnisses dienen, wobei zunächst gleiche Teile Oxalatlösung und Testflüssigkeit gemischt und in der Menge eines Tropfens mit einem Tropfen Blut verrührt werden.

Miller (29) hat die Frischblutschnellreaktion nach Diernhofer bei 962 Rindern einer Nachprüfung unterzogen, wobei 155 Tiere aus bangfreien Beständen stammten. Bei letzteren wurde lediglich eine einzige zweifelhafte Reaktion erzielt, während in allen anderen Fällen das negative Ergebnis der Serumlangsamagglutination mit dem der Frischblutschnellagglutination übereinstimmte. Von den übrigen 807 Tieren aus infizierten bzw. geimpften Beständen waren 232 Rinder sowohl bei der Frischblutschnellagglutination wie auch bei der Serumlangsammagglutination übereinstimmend positiv. In 7 Fällen von positiver Serumlangsamagglutination und Komplementbindung versagte die Frischblutschnellagglutination; 9mal war die Frischblutschnellagglutination positiv in Uebereinstimmung mit der Komplementbindung, während die Langsamagglutination versagte. In weiteren 17 Fällen, in denen die Frischblutschnellagglutination positiv und in 23 Fällen, in denen sie zweifelhaft war, ergab die Langsamagglutination entweder einen Titer unter 1:50, oder sie war ebenso wie die Komplementbindung völlig negativ. Insgesamt stimmten die Ergebnisse bei den in der Serumlangsamagglutination positiven Reaktionen zu 98 % mit denen der Frischblutschnellagglutination überein. Bei der Technik der Blutentnahme weicht Miller von den Vorschriften Diernhofers ab, indem er der Blutentnahme aus einer Schwanzvene wegen ihrer Einfachheit und größeren Sauberkeit den Vorzug gibt. Im übrigen ist er in Uebereinstimmung mit Diernhofer von der praktischen Verwendbarkeit der Frischblutschnellagglutination überzeugt, da sie in bangfreien Beständen mit der gleichen Sicherheit wie die Langsamagglutination und die Komplementbindung arbeite, während in verseuchten Beständen die Ergebnisse bei Agglutinationstitern über 1:50 weitgehend übereinstimmten und die Frischblutschnellagglutination darüber hinaus mehr positive Tiere als die übrigen Reaktionen erfasse. Miller empfiehlt, die schwachpositiven und die zweifelhaften bzw. nicht klar negativen Reaktionen in seuchenfreien Beständen einer Nachprüfung mittels der Langsamagglutination und der Komplementbindung zu unterziehen.

Eingehend haben sich auch Klimmer (23) und seine Mitarbeiter Lehnhardt (25), Zimmer (43) und Vogel (23) mit der Frage der Schnellagglutination zum Nachweis der Banginfektion des Rindes befaßt. Nach eingehenden Vorarbeiten wurden vergleichende Versuche mit Blutproben von 244 Rindern unter Anwendung der Langsamagglutination, des Huddlesonschen, des Diernhoferschen und des von den Autoren selbst ausgearbeiteten Blut-Saponin-Röhrchen-Verfahrens durchgeführt. Bei der Klimmerschen Methode wird das Blut durch Zusatz von Saponinlösung zur völligen Auflösung gebracht, bis es ganz durchsichtig ist. Die Agglutination wird durch den Saponinzusatz nicht beeinflußt. Die Entnahme des Blutes erfolgt nach Klimmer (23) am zweckmäßigsten aus einer Schwanzvene in der Nähe der

Schwanzquaste, wobei die Tiere angeblich ganz ruhig verbleiben. Ein kleiner, runder Speziallöffel wird mit einem Blutstropfen gefüllt, das überstehende Blut ist mit einem flachen Streicher abzustreichen, die Unterfläche des Löffels abzuwischen. Das Blut wird dem in einem graduierten Röhrchen enthaltenen Saponin-Antigen hinzugefügt; nach kräftigem Durchschütteln verbleiben die Röhrchen bis zu 48 Stunden an einem warmen Ort (20—40° C); hierauf erfolgt die Ablesung des Ergebnisses. Letzteres ist positiv bei völliger Klärung des Röhrcheninhalts und Auftreten eines flächenartigen Bodensatzes. Bei geringergradigem Bodensatz und mäßiger Trübung der Flüssigkeit ist die Reaktion fraglich, und bei Fehlen des flächenartigen oder Gegenwart eines runden, knopfförmigen Bodensatzes und Weiterbestehen der Trübung ist das Ergebnis negativ. Durch Zusatz von 2 bzw. 4 Löffeln Blut zu der einfachen Menge Saponin-Antigen können auch Tiere erfaßt werden, die bei der Langsamagglutination nur mit Titern von 1:50 bzw. 1:25 reagieren.

Klimmer und Vogel (23) haben neben der Original-Diernhofer-Methode auch eine Abänderung derselben vorgenommen, wobei das Diernhofersche Antigen einen Zusatz von Saponin erhält. Dafür kann auf die Verwendung von Ammoniumoxalatlösung verzichtet werden. Die Abänderung wird mit der Beobachtung begründet, daß der Zusatz von Ammoniumoxalat zum Blut häufig zweifelhafte Reaktionen zeitigt, oder sogar positive Agglutination vortäuscht, wobei das Blut zuweilen ohne Antigen lediglich nach Vermischen mit der Oxalatlösung ausflockt. Als Nachteil wird es auch bezeichnet, daß die Ammoniumoxalatlösung nur kurze Zeit haltbar ist, daher häufig erneuert werden muß, und daß sie nur getrennt vom Antigen aufbewahrt werden kann. Das Saponin-Antigen dagegen ist lange Zeit haltbar. Die Diernhofersche Reaktion wird von Klimmer nach den Vorschriften Diernhofers, jedoch mit 2 Tropfen Saponin-Antigen angesetzt.

Bei ihren Untersuchungen haben Klimmer und Vogel mit dem Verfahren nach Huddleson 3 %, nach dem Blut-Saponin-Röhrchen-Verfahren 1,3 %, nach dem Original-Diernhoferschen-Verfahren 10,6 bzw. 12,4 % Abweichungen von den mit Hilfe der Serumlangsamagglutination erhaltenen Befunden erzielt. Sie empfehlen daher ihr Verfahren mit dem Saponin-Antigen zur Durchführung in der Praxis, da es wesentlich genauer als die Schnellagglutination nach Diernhofer arbeite und außerdem infolge seiner Einfachheit im Stalle mit einer einzigen Hilfskraft schnell und bequem durchgeführt werden könne.

Götze (15) hat die Frischblutschnellagglutination unter praktischen Verhältnissen gleichfalls angewandt. Ueber den Umfang seiner Untersuchungen hat er genauere Angaben nicht gemacht. Er äußert sich jedoch zusammenfassend dahin, daß die Blutuntersuchungen Sache der Institute sind. Wenn auch die an Ort und Stelle ausführbare Schnellreaktion recht gute Ergebnisse liefern könne, so sei er trotzdem zu der

Ueberzeugung gekommen, daß es für die Abortustilgung richtiger ist, die Untersuchung im Laboratorium ausführen zu lassen. „Die immerhin einschneidenden Entscheidungen können nur auf Grund einer menschenmöglichen Sicherheit getroffen werden. Die für die Ausführung der Schnellmethode unbedingt nötige Uebung und Sicherheit kann sich der praktische Tierarzt bei seiner vielseitigen Beanspruchung kaum aneignen. Die unzulängliche Umgebung hinsichtlich Licht, Sauberkeit usw. vermehrt die Schwierigkeiten. Allzulang ausgedehnte Untersuchungen im Stalle und auf dem Gehöft sind nicht am Platze. Schließlich ist es für den Tierarzt, der im Einvernehmen mit den Bauern und Züchtern das Absonderungs- und Ausmerzverfahren an Ort und Stelle leitet und die erforderlichen Anordnungen unter Berücksichtigung der klinischen und wirtschaftlichen Gesichtspunkte trifft, nötig Titerangaben in der Hand zu haben."

Aus den im Schrifttum vorliegenden Veröffentlichungen ist zu entnehmen, daß die Frischblutschnellagglutination in Form der Diernhoferschen Reaktion bisher am weitgehendsten durchgearbeitet ist und in Deutschland am meisten Beachtung gefunden hat, daß aber ein abschließendes Urteil über ihre Zuverlässigkeit und Verwendbarkeit in der Praxis bis jetzt ebenso wenig wie bei den anderen Schnellverfahren möglich ist. Meine Untersuchungen befassen sich deshalb in der Hauptsache mit der Diernhoferschen Methode.

C. Eigene Untersuchungen.

Als Maßstab für die Bewertung der Frischblutschnellagglutination diente in erster Linie der Vergleich ihrer Ergebnisse mit denen der Langsamagglutination. In Uebereinstimmung mit der amtlichen Vorschrift wurde die Agglutination bei Serumverdünnungen 1:100 und darüber als positive Reaktion angesprochen. Eindeutige Agglutination in der Verdünnung 1:50 galt als verdächtig; sie war jedoch ebenfalls positiv, wenn gleichzeitig die Komplementbindung oder die Flockungsreaktion positiv ausfiel. Agglutinationen mit Titern unter 1:50 waren negativ.

Außer mit diesem Ergebnis der Langsamagglutination wurde die Frischblutschnellreaktion jedoch auch bei allen Proben in Parallele zu der Komplementbindung und bei den aus verseuchten Dörfern bzw. aus infizierten Einzelbeständen stammenden Blutproben auch zu den Flockungsreaktionen nach Meinicke und nach Sachweh gesetzt. Die Flockungsreaktion nach Meinicke wurde anstelle der Komplementbindung als Ergänzung zu der Langsamagglutination amtlich vorgeschrieben, als meine Untersuchungen bereits im Gange waren; sie

konnte deshalb nicht mehr in allen Fällen berücksichtigt werden. Auf Grund der Veröffentlichungen verschiedener Untersucher (Sachweh [32,33, 34], Pröscholdt [31], Feldt [13], Eickmann und Eschbaum [12], Fröhle [14]) kann die Sachweh-Reaktion der Flockungsreaktion nach Meinicke mindestens gleichwertig zur Seite gestellt werden und übertrifft sie sogar in der Erfassungsbreite. Ich habe sie deshalb in die Untersuchungen mit einbezogen, um einen weiteren Anhaltspunkt für die Bewertung der Schnellagglutination zu gewinnen.

I. Technik.

Bei der Technik der Untersuchungen hielt ich mich so weitgehend wie möglich an die amtlichen Richtlinien; im einzelnen bin ich wie folgt vorgegangen:

a) Schnellagglutination.

Es wurden zunächst Vorversuche angestellt, in denen die von Diernhofer angegebene Technik genau beachtet wurde, um schon beim Einarbeiten Fehler möglichst zu vermeiden. Als Testflüssigkeit wurde zunächst ein nach den Vorschriften Davids hergestellter Test verwendet, wobei ich mich eng an die bereits erwähnte Vorschrift (s. Abschnitt B) hielt. Späterhin wurden in den Vorversuchen vergleichsweise noch ein vom Reichsgesundheitsamt zur Verfügung gestellter Test und die von Diernhofer hergestellte Testflüssigkeit verwendet. Die Vergleichsversuche ergaben zwar keine wesentlichen Unterschiede hinsichtlich des positiven oder negativen Ausfalls der Reaktion, letztere war jedoch mit dem Diernhoferschen Test besonders sinnfällig und leicht abzulesen; die Hauptversuche habe ich deshalb ausschließlich mit dem Diernhoferschen Test vorgenommen, der von dem Hersteller kostenlos zur Verfügung gestellt wurde. Hierfür sei auch an dieser Stelle bestens gedankt.

Die Blutentnahme erfolgte bei den Vorversuchen ebenfalls nach der Vorschrift Diernhofers aus einer Hautvene der Ohrmuschel. Auf der Außenseite wurden die Haut und das Gefäß mit einer kleinen Lanzette angeritzt, wie sie bei der Entnahme von Hühnerblutproben verwendet wird. Im Stalle macht es die schlechte Beleuchtung mitunter erforderlich, das Ohr von der Unterseite mit einer elektrischen Taschenlampe zu beleuchten, wodurch gleichzeitig die Gefäße deutlich sichtbar werden. Das austretende Blut wird mit der Löffellanzette nach Schütt aufgenommen und muß alsdann so schnell wie möglich bearbeitet werden. Die Gerinnung tritt insbesondere in den Fällen sofort ein, in denen das Blut nur spärlich aus dem Gefäß quillt. Eine vorzeitige Gerinnung des Blutstropfens war nicht selten dann festzustellen, wenn die Reaktion nicht im Stalle selbst, sondern außerhalb desselben vorgenommen wurde. Diese Art der Blutentnahme hat auch noch andere Nachteile;

der Bluttropfen wird vielfach verschmutzt, wenn er nach der Vorschrift Diernhofers vom Ohr aufgelöffelt wird, für den noch nicht eingearbeiteten Anfänger können diese Schmutzteile Zweifel bezüglich des Ausfalls der Reaktion auslösen. Außerdem sind bei nicht ganz ruhigen Tieren zwei Helfer erforderlich, trotzdem ist es mehrfach vorgekommen, daß bei unruhigem Verhalten des Tieres eine erhebliche Verletzung der Ohrmuschel gesetzt wurde, die eine unerwünschte Blutung bei dem Rind und den Unwillen des Tierbesitzers zur Folge hatte. Ich habe deshalb in den Hauptversuchen von dieser Art der Blutentnahme abgesehen und die Proben in der üblichen Weise aus der Drosselvene gewonnen, zumal für die Vergleichsversuche mit den Laboratoriumsreaktionen eine größere Blutmenge zur Serumgewinnung ohnedies erforderlich war. Bei Massenuntersuchungen halte ich diese Art der Entnahme für die einzig mögliche, auch wenn lediglich die Schnellprobe angewandt wird. Die Proben können auf dem Röhrchen einwandfrei gekennzeichnet werden, und das Blut bleibt lange genug flüssig, um die Reaktion auch außerhalb des Stalles im Freien oder in einem besonderen Raum mit der erforderlichen Ruhe vornehmen zu können.

Bei der Durchführung der Untersuchungen hat sich das von Diernhofer angegebene Untersuchungsbesteck bestens bewährt, es enthält Glasplättchen in genügender Zahl, auf denen die Vermischung von Blut, Test und Oxalatlösung vorgenommen werden kann, ferner Tropfpipetten, Vorratsflaschen für Test und Oxalatlösung, kleinere Standgefäße, aus denen die erforderlichen Flüssigkeiten beim Arbeiten bequem entnommen werden können, und eine Löffellanzette nach Schütt. Das Holzkästchen ist derartig gefeldert, daß die Gegenstände einschließlich der Kerze zum Erwärmen der Glasplättchen sicher und ohne Gefahr des Umfallens auf dem Arbeitsplatz aufgestellt werden können.

Abgesehen von den Vorversuchen, die in kleineren Beständen zur Durchführung kamen, habe ich in den Hauptversuchen stets mit einem Kollegen zusammen gearbeitet, der die Blutproben laufend entnahm, sodaß ich nur die Reaktion anzusetzen hatte und ihren Verlauf alsdann sorgfältig überwachen konnte. Es konnten auf diese Weise 200—300 Tiere im Tag durchuntersucht werden, auch hatte ich so die Möglichkeit, eine Anzahl praktischer Tierärzte mit dem Verfahren bekannt zu machen und mir ein Urteil über die Möglichkeit seiner Anwendung seitens der Kollegen zu bilden.

Sämtliche untersuchten Tiere waren über 1 Jahr alt und infolge ihrer Zugehörigkeit zu dem staatlichen Tuberkulosebekämpfungsverfahren mit einer Ohrmarke versehen. Die Nummer wurde zunächst auf dem Glasplättchen vermerkt, um eine sichere Identifizierung der Proben zu gewährleisten; je ein Tropfen Testflüssigkeit, Zitratlösung und Blut kamen auf dem Glasplättchen zur nachhaltigen und sorgfältigen Vermischung auf einer Fläche von etwa Zweimarkstückgröße. Auch für die Entnahme des Bluttropfens aus dem Röhrchen sowie für die Ver-

mischung der Flüssigkeiten hat sich die Löffellanzette gut bewährt; bei einiger Uebung können mit ihr Tropfen von ungefähr gleicher Größe schnell entnommen werden. Gebrauchte Lanzetten und Glasplatten wurden von einer Hilfsperson in lauwarmem Wasser laufend gereinigt und gut trocken gerieben.

Die Oxalatlösung wurde anfangs nach der Vorschrift Diernhofers wie folgt hergestellt: Ammonium oxalic. 0,5, Aqua bidestill. ad 100,0, Lösung mit ca. 2—3 ccm Chloroform durchschüttelt und filtriert. Ich machte jedoch in ähnlicher Weise wie Klimmer die Beobachtung, daß die Verwendung dieser 0,5%igen Ammon. oxal. Lösung Fehlerquellen mit sich bringt; wiederholt habe ich festgestellt, daß Blutproben bei Vermischung mit der Oxalatlösung allein, also ohne Zusatz von Testflüssigkeit, in einer Weise ausflocken, die eine Unterscheidung gegenüber tatsächlicher, positiver Agglutination kaum oder gar nicht gestattet. Ich bin deshalb zur Verwendung einer 0,6%igen Natriumzitratlösung mit doppelt destilliertem Wasser übergegangen, die ich mir jede Woche frisch bereitet habe; die genannten Fehlschläge sind dadurch vermieden worden.

Die Beobachtung des Reaktionsablaufs erfolgte unter lebhaftem Neigen und Schwenken der Glasplatte anfangs 3 Minuten, später 5 Minuten lang. War die Flüssigkeit nach einer halben Minute noch gleichmäßig trüb ohne Flockenbildung, so wurde die Glasplatte mittels einer brennenden Kerze vorsichtig und unter Kontrolle des Fingers bis zum beginnenden Aufsteigen von Dämpfen erwärmt. Die Erwärmung mußte hauptsächlich im Zentrum des Ausstrichs erfolgen, um eine zu starke Erhitzung und Gerinnung der dünneren Randflüssigkeit zu vermeiden. Falls nach etwa 1 Minute keine Agglutination zustande kam, wurde die Platte zur Seite gelegt und nach weiteren 3 Minuten endgültig abgelesen. Je nach der Schnelligkeit und dem Grade der Flockung habe ich schwach positive und positive Reaktionen unterschieden, hinzu kamen die stark positiven Fälle, bei denen eine sehr starke Flockung unter völliger Klärung der Flüssigkeit und Ansammlung der Flocken am Rande fast augenblicklich oder schon nach kurzer Zeit festzustellen war. Zweifelhafte Fälle, bei denen ein sicheres Urteil nicht abgegeben werden konnte, wurden gleichfalls beobachtet. Bei ihnen traten einzelne Flöckchen in der Regel erst nach längerer Zeit auf. Sie sind nach einiger Uebung mit Gerinnseln infolge zu starken Erwärmens nicht mehr zu verwechseln. Im letzteren Fall wird der ganze Ausstrich mit einem Netz mehr oder weniger grober Fäden überzogen; die kennzeichnende Ansammlung der Flocken am Rande wird vermißt.

b) Langsamagglutination.

Die Testflüssigkeit wurde mit den gleichen, gut agglutinierenden Bangbakterienstämmen hergestellt, mit denen auch der Test für die Schnellagglutination gewonnen wurde. Ich benützte jeweils 7—8

Stämme verschiedener Herkunft, die 2—4 Tage auf 2—3%igem Glycerinagar (Pferdefleisch-Agar + 2 % Glycerin) bei 37 ° C gezüchtet worden waren. Die Abschwemmung des Kulturrasens erfolgte mit physiologischer Kochsalzlösung, die einen Zusatz von 0,5 % Phenol enthielt. Die Bakterienaufschwemmung wurde alsbald durch Papier filtriert, auf die vorgeschriebene Dichtigkeit gebracht und 30 Minuten lang bei 70 ° C im Wasserbad inaktiviert. Besonderer Wert wurde auf die sodann nochmals erforderliche genaue Einstellung der Dichtigkeit unter Vergleich des Trübungsgrades der Serumantigenmischung mit einer Aufschwemmung von Bariumsulfat (97 ccm 1%iger Schwefelsäure + 3 ccm 1%iger Bariumchloridlösung) gelegt. Vor der Verwendung wurde jede Testflüssigkeit auf ihre Brauchbarkeit mit bekannt positiven Seren, ferner mit Normalserum und physiologischer Kochsalzlösung geprüft, außerdem wurde jede neue Herstellungsnummer vor Verwendung in der Veterinärabteilung des Reichsgesundheitsamts auf ihre Brauchbarkeit untersucht. Sämtliche Teste waren brauchbar.

Entgegen den sonst üblichen Verdünnungen wurden alle Serumproben in der Konzentration 1:25, 1:50 und 1:100 geprüft, um auch unterschwellige, nicht mehr als positiv geltende Werte durch die Agglutination zu erfassen. Von jeder Verdünnung wurde 1 ccm in die Agglutinationsröhrchen eingemessen und nach Zusatz jeweils eines Tropfens Bangbakterienaufschwemmung unter Verwendung einer Normaltropfpipette mit dem Test durch Schütteln des Gestells gut vermischt. Die Ablesung des Ergebnisses erfolgte nach durchschnittlich 14stündigem Aufenthalt der Gestelle im Brutschrank bei 37 ° C. Die Agglutination galt als positiv, wenn nach dieser Zeit ein flächenhafter, schleierförmiger Bodensatz ausgebildet war, und bei kurzem Aufschütteln mehr oder weniger grobe Flocken in der sonst klaren Flüssigkeit aufgewirbelt werden konnten. Bei Flockenbildung in der trübgebliebenen Flüssigkeit war das Ergebnis zweifelhaft; die Reaktion wurde als negativ angesprochen, wenn die Flüssigkeit ebenso wie die ohne Test oder mit Normalserum angesetzte Kontrolle völlig trüb geblieben war, oder durch Aufschütteln des nicht flächenhaften und mit unregelmäßigen Rändern versehenen, sondern knopfförmig rundlichen Bodensatzes eine derartige Trübung verursacht wurde. Ein Tier wurde, wie bereits erwähnt, als infiziert angesprochen, wenn die Agglutination in der Verdünnung 1:100 positiv verlief, als verdächtig, wenn die Reaktion lediglich in der Verdünnung 1:50 positiv auslief; falls jedoch gleichzeitig die Komplementbindung bzw. eine Flockungsreaktion oder alle Reaktionen positiv verliefen, galt auch ein derartiges Tier als infiziert. Agglutinationsergebnisse unter 1:50 wurden als negativ bewertet.

c) Komplementbindung.

Das Antigen wurde wiederum von den gleichen 7—8 Bangbakterienstämmen gewonnen, die auch für die Herstellung der Testflüssigkeit bei der Agglutination dienten. Die Kulturen wurden in der geschilderten Weise gezüchtet, abgeschwemmt und sodann 12 Stunden lang mit Glasperlen geschüttelt, im Wasserbad gekocht und bis zur völligen Klärung der überstehenden Flüssigkeit zentrifugiert. Durch Zusatz von 0,1 % Chinosol sollte das Kochantigen haltbarer gemacht werden.

Im Vorversuch wurde zunächst das Komplement in Form von frisch gewonnenem Meerscheinchenserum nach der üblichen Weise ausgewertet; die so ermittelte zweitstärkste Verdünnung, die noch Hämolyse auslöste, galt als Gebrauchsverdünnung für den Hauptversuch.

Der Hammelblutambozeptor wurde in Form von hämolytischem Kaninchenserum vom Reichsgesundheitsamt Berlin-Dahlem bezogen; er wurde in etwa 3wöchigen Abständen ausgewertet und kam in 2—3-facher Titermenge zur Anwendung.

Die Hammelblutkörperchen wurden durch Schütteln mit Glasperlen vom Fibrin befreit und mit physiologischer Kochsalzlösung solange gewaschen, bis die überstehende Flüssigkeit klar und farblos war. Die Blutkörperchenaufschwemmung kam 4%ig zur Verwendung.

Die Auswertung des Antigens wurde mit abgestuften Verdünnungen von 0,1—10 % mit 3 bekannten, sicher positiven und 3 sicher negativen Seren unter Kontrolle etwaiger Eigenhemmung des Bangbakterienextraktes durchgeführt.

Den Hauptversuch habe ich durchweg mit aktivem Serum in der Menge von 0,1 bzw. 0,05 angesetzt. Ich arbeitete mit der Gesamtmenge von 2,5 % ccm Flüssigkeit; das Serum-Komplement-Antigen-Gemisch wurde gründlich durchgeschüttelt und für die Dauer von 20 Minuten bei Zimmertemperatur und anschließend nochmals 20 Minuten bei 37 ° C im Wasserbad zur Bindung belassen. Hierauf erfolgte der Zusatz des hämolytischen Systems und nochmaliges Verbringen in das Wasserbad für 20 Minuten. Außer der dann vorgenommenen vorläufigen Ablesung wurde das Ergebnis nach 24stündiger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur endgültig festgestellt.

Bei vollständiger Hemmung der Hämolyse waren die roten Blutkörperchen nach dieser Zeit in Form eines runden, knopfförmigen Bodensatzes sedimentiert, die überstehende Flüssigkeit war wasserklar. Bei fast vollständiger Hemmung zeigte die Flüssigkeit einen rötlichen Schimmer, während die Blutkörperchen in derselben Weise abgesetzt waren. Diese beiden Reaktionen galten als positiv für eine Bangінfektion, falls nicht durch die Kontrolle Eigenhemmung des Serums nachgewiesen wurde. Wenn der Bodensatz bei rötlicher Flüssigkeit nur mäßig war, galt die Reaktion als schwachpositiv und in allen übrigen Fällen als negativ.

d) Flockungsreaktion nach Meinicke.

Als Antigen diente der gleiche wie bei der Komplementbindung beschriebene Bangbakterienauszug. Die Auswertung des Antigens erfolgte mittels der Komplementbindungsreaktion mit steigenden Antigenverdünnungen von 10—0,1%igen Lösungen unter Verwendung von 3 bekannten positiven und 3 bekannten negativen Serumproben. Als Gebrauchsdosis für die Flockungsreaktion diente etwa die doppelte Titermenge der für die Komplementbindung ermittelten Gebrauchsverdünnung, bei welcher alle positiven Seren gerade noch eine vollständige Hemmung zeigten, während die negativen Serumproben keine Hemmung aufweisen durften. Jedoch wurde das Antigen zunächst noch in einem Vorversuch nach der Meinicke-Methode wiederum mit abgestuften Antigenmengen endgültig ausgewertet.

Für die Meinicke-Reaktion wurde ferner ein Extrakt benötigt, der in Form des Original-Meinicke-Extrakts (M.K.R. II extra stark) von der Adler-Apotheke, Hagen i. Westf., bezogen und in 10%iger Lösung angewandt wurde.

Als Verdünnungsflüssigkeit diente nach der Vorschrift von Meinicke eine 3,5%ige Kochsalzlösung, die aus der 10%igen, lange Zeit haltbaren Stammlösung jeden Tag frisch hergestellt wurde.

Bei der endgültigen Antigenauswertung wurden zunächst der Extrakt sowie die 3,5%ige Kochsalzlösung auf 55 ° C erwärmt und mit der Kochsalzlösung im Verhältnis 1:10 verdünnt. Die durch wiederholtes schnelles Umschütten im Reagenzröhrchen erhaltene Extraktverdünnung kam zum Nachreifen nochmals 2 Minuten in das Wasserbad von 57 ° C und wurde dann in Menge von je 0,7 ccm in kleine Zentrifugenröhrchen mit runder Kuppe einpipettiert, die bereits 0,1 ccm der positiven bzw. negativen Serumproben im aktiven Zustand enthielten. Diese Röhrchenreihe diente als Kontrolle ohne Antigen. Bei der zweiten eigentlichen Versuchsreihe wurde in der Weise vorgegangen, daß die Kochsalzlösung vor der Vermischung mit dem Extrakt einen Zusatz des zu prüfenden Antigens in verschiedener Konzentration erhielt.

Beim Hauptversuch wurde in derselben Weise mit jeder einzelnen Serumprobe verfahren; sie wurde einmal mit der Extraktverdünnung und Bangantigen in der geringsten wirksamen Titermenge und zur Kontrolle gleichzeitig mit der Extraktverdünnung ohne Antigenzusatz geprüft. Bei jedem Hauptversuch liefen neben dieser Kontrolle auf Eigenflockung des Serums weitere Kontrollen unter Verwendung von 3 sicher positiven und 3 sicher negativen Serumproben mit.

Die Röhrchen wurden nach gründlichem Durchschütteln der Flüssigkeiten sowohl bei der Antigenauswertung wie auch bei den Hauptversuchen 20 Minuten lang bei 2000 Umdrehungen zentrifugiert. Nach vorsichtigem Abgießen der überstehenden Flüssigkeit vom Bodensatz

wurden die Röhrchen mit dem Boden nach oben in Gestelle verbracht, und nach 20 Minuten erfolgte das Ablesen der Reaktion.

Bei den Flockungsreaktionen ist es von besonderer Wichtigkeit, daß die verwendeten Glassachen peinlich sauber und frei von Säuren sind, da sonst das Ablesen erschwert wird bzw. ein falsches Ergebnis vorgetäuscht werden kann. Die Beurteilung des Ergebnisses geschah nach folgenden Gesichtspunkten. Bei völlig negativer Reaktion lief das Sediment beim Umkippen des Röhrchens alsbald entweder in einem schmalen Streifen oder allseitig mehr oder wenig weit am Rande des Röhrchens herunter. Bei positiver Reaktion dagegen war das Röhrchen auch nach 20 Minuten noch vollkommen klar, und an der Kuppe hatte sich das beim Zentrifugieren entstandene Sediment in Form eines hellblauen, scharfrandigen Knopfes erhalten. Vereinzelt war bei positiver Reaktion der Rand des Kopfes nicht glatt, sondern schwach gezackt; als schwach positive Reaktion wurden die Fälle angesehen, in denen der Bodensatz entweder etwas breiter war und sich nicht ganz scharf von der Umgebung absetzte. Bei den Kontrollröhrchen ohne Antigen mußte das Ergebnis negativ sein, widrigenfalls Eigenflockung bestand. Die Kontrollen mit positiven bzw. negativen Seren mußten ein entsprechendes Ergebnis aufweisen.

e) Flockungsreaktion nach Sachweh.

Für die Sachwehsche Abart der Flockungsreaktion wurde der von Sachweh zur Verfügung gestellte Spezialextrakt jeweils in 15%iger Verdünnung verwendet. Außerdem diente nach der Vorschrift von Sachweh eine 5%ige, jeden Tag frisch zubereitete Kochsalzlösung als Verdünnungsflüssigkeit. Das Antigen wurde von 10 Bangbakterienstämmen in der bereits geschilderten Weise gewonnen, jedoch nicht gekocht, sondern 3 Stunden im Wasserbad bei 70° C inaktiviert und hierauf während zweier Tage jeweils 4 Stunden mit Glasperlen geschüttelt, sowie so lange zentrifugiert, bis die Flüssigkeit opaleszierte, und nach dem Abgießen mit 0,1 % Chinosol haltbar gemacht.

Zur Auswertung des Antigens wurden steigende Mengen von 0,05 bis 0,4 ccm Antigen mit Kochsalzlösung auf 10 ccm aufgefüllt, während 5 Minuten im Wasserbad von 56° C erwärmt und alsdann mit jeweils 1,5 ccm des gleichfalls erwärmten Extraktes (15%ig) zusammengegossen (Antigenkochsalzlösung zum Extrakt). Nach zweimaliger Wiederholung des Umgießens und Abkühlung auf 37° C wurde die weitere Auswertung des Antigens in derselben Weise wie später der Hauptversuch angesetzt. In die Röhrchen, die bereits 0,1 ccm aktives Serum enthielten, wurden jeweils 0,7 ccm Antigen-Extrakt-Kochsalzlösung einpipettiert, gut durchgeschüttelt und 20 Minuten lang bei 2000 Umdrehungen zentrifugiert. Jede Antigenverdünnung wurde mit jeweils 3 sicher positiven und 3 sicher negativen Serumproben geprüft; hinzu

kamen die Kontrollen ohne Antigen mit Extrakt allein. Auf diese Weise wurde durch die Antigenauswertung diejenige niedrigste Konzentration ermittelt, die den deutlichsten knopfartigen Flockungskern erzeugte. Mit dieser Antigendosis wurde im Hauptversuch gearbeitet.

Die Ablesung geschah wiederum 20 Minuten nach Entnahme der Röhrchen aus der Zentrifuge und in ähnlicher Weise wie bei der Flockungsreaktion nach Meinicke. Es galt als positive Reaktion, wenn der Bodensatz an der Kuppe des Röhrchens in Form eines hellbraunen, scharf umgrenzten oder in vereinzelten Fällen am Rand etwas zerklüfteten Knopfes, der sich von dem völlig blanken Röhrchen absetzte, sichtbar war; bei breiterem, oder am Rande unscharfen Sediment galt die Reaktion als zweifelhaft bzw. schwach positiv, bei negativer Reaktion war der Bodensatz nicht erhalten geblieben, sondern zerlaufen.

II. Material.

Als Untersuchungsmaterial dienten die Blutproben von insgesamt 4487 über 1 Jahr alten Rinder aus 8 verschiedenen Gemeinden, in denen die Bruzellose mehr oder weniger stark verbreitet war; da in den genannten Gemeinden sämtliche über 1 Jahr alten Tiere von der Untersuchung erfaßt wurden, wurde damit gleichzeitig ein zuverlässiger Anhaltspunkt für den Grad der Verseuchung überhaupt gewonnen. Schließlich habe ich noch 11 Einzelbestände mit jeweils 15 bis 48 erwachsenen Tieren, zusammen 365 Rindern, in die Untersuchung mit einbezogen. Diese Bestände waren durchweg stärker verseucht. In ihnen waren Verkalbefälle z. T. in erheblicher Zahl vorgekommen; teilweise waren die Tiere auch mit Bangbakterienkulturen geimpft worden. Im ganzen erfaßten die Versuche somit 4852 Tiere.

III. Verlauf der Versuche.

a) Ergebnisse der bruzellosefreien Gemeinden.

Baden gehört zu den Gegenden des Reiches, in denen die Bruzellose bisher eine verhältnismäßig geringe Ausbreitung gewonnen hat. Der Verseuchungsgrad dürfte nach allen Erfahrungen erheblich unter dem im sog. Preuß. Großversuch ermittelten Prozentsatz von 10,99 v. H. infizierten weiblichen Rindern liegen (Zeller [41]). So konnte nach der Angabe von Trautwein (37) durch die im Tierhygienischen Institut Freiburg i. Br. vorgenommenen bakteriologischen und serologischen Untersuchungen bis 1. April 1936 die Seuche lediglich in 209 Beständen nachgewiesen werden. Letztere verteilten sich auf 28 von 40 Bezirken, wobei allein rund 100 verseuchte Bestände zudem auf den stärkst verseuchten Bezirk entfielen. Wenn auch diese Zahlen den wirklichen Verhältnissen wohl kaum entsprechen, so darf immerhin die

Seuchendichte in Baden als bislang verhältnismäßig sehr gering angesprochen werden.

Es erschien nach dieser Sachlage von vornherein von besonderer Wichtigkeit, die Untersuchungen vor allem auch auf die Frage zu erstrecken, ob die Frischblutschnellagglutination in sicher unverseuchten Beständen genügend zuverlässig arbeitet und dort nicht etwa positive und zweifelhafte Reaktionen in einem zu erheblichen Prozentsatz zeitigt. Es wurden zu diesem Zweck in 6 Ortschaften Mittelbadens die sämtlichen 3319 erwachsenen Rinder untersucht, die auf Grund der Kenntnis der beamteten und prakt. Tierärzte in Uebereinstimmung mit den Angaben der Tierbesitzer als bruzellosefrei anzusprechen waren. Die mittels der Schnellagglutination, der Langsamagglutination und der Komplementbindung erzielten Ergebnisse werden durch folgende Uebersicht veranschaulicht.

Tabelle I.

Zahl der Blutproben	Ergebnis der Schnellaggl.			Ergebnis der Langsamagglutination				Kompl.-Bd.
	+	—	±	1:100	1:50	1:25	—	+
Gemeinde I								
278	—	278	—	—	—	24	254	—
Gemeinde II								
486	13	464	9	—	4	108	374	—
Gemeinde III								
613	—	613	—	—	1	40	572	—
Gemeinde IV								
885	2	880	3	—	20	339	526	2
Gemeinde V								
854	6	846	2	—	4	90	760	—
Gemeinde VI								
203	3	197	3	—	—	33	170	—
Summe:								
3319	24	3278	17	—	29	634	2656	2

Zeichenerklärung: + = positiv;
— = negativ;
± = zweifelhaft.

Die Untersuchung der für bruzellosefrei gehaltenen 6 Gemeinden ist demnach bei der Schnellagglutination in 24 Fällen positiv und in 17 Fällen zweifelhaft verlaufen; mit einer Ausnahme handelte es sich lediglich um schwach positive Ausschläge. Die übrigen 3278 Proben waren einwandfrei negativ.

Dieses in rund 1,2 % der Fälle positive Ergebnis der Frischblutschnellagglutination wurde durch die mit denselben Proben angesetzte Langsamagglutination und die Komplementbindung nicht bestätigt. Die Langsamagglutination zeitigte in 29 Fällen allerdings ein zweifelhaftes Ergebnis, die Proben agglutinierten in der Verdünnung 1:50. Die gleichzeitig mitangesetzte Komplementbindung verlief jedoch eindeutig negativ, und lediglich in 2 anderen Fällen zeitigte die Komplementbindung einen schwach positiven Ausfall. Alle übrigen Proben waren bei Langsamagglutination und Komplementbindung negativ, oder zeigten allenfalls Werte von 1:25.

Die Annahme von der Bruzellosefreiheit der Bestände in diesen 6 Gemeinden dürfte somit auf Grund des Untersuchungsergebnisses zu recht bestehen, und der vereinzelt positive bzw. zweifelhafte Ausfall der Schnellagglutination kann nicht als spezifische Reaktion gewertet werden, zumal auch über eine etwaige Impfung bei den betreffenden Tieren nichts in Erfahrung gebracht werden konnte. Auch handelte es sich durchweg nicht um zugekaufte, sondern um selbst nachgezüchtete Rinder. Aus dem Ergebnis ist der Schluß zu ziehen, daß die Frischblutschnellagglutination in sicher bruzellosefreien Beständen positive Reaktionen, wenn auch mit nur schwachen Ausschlägen zeitigen kann, daß die Ausschläge jedoch verhältnismäßig seltene Fehlresultate sind und deshalb leicht durch Nachprüfung mit den üblichen Laboratoriumsmethoden auf ihre Richtigkeit untersucht werden können.

b) Ergebnisse in bruzelloseverseuchten Gemeinden.

Die Versuche erstreckten sich durchweg auf die erwachsenen Tiere zweier Gemeinden, von denen die Gemeinde VII als nur gering, die Gemeinde VIII jedoch als stark verseucht anzusehen ist.

Die Gemeinde VII liegt in Nordbaden und hat entsprechend der dortigen Wirtschaftsform eine größere Anzahl kleiner Abmelkwirtschaften mit vorwiegend Niederungsvieh bei ausschließlicher Stallhaltung. Ansteckendes Verkalben ist dort in den letzten Jahren ab und zu beobachtet worden, ohne daß es einen ausgesprochen seuchenartigen Charakter angenommen hätte.

Die Ortschaft VIII ist eine bedeutende Züchtergemeinde des Hochschwarzwaldes, in der das Hinterwälderrind gezüchtet wird. Die Bruzellose wurde dort im Jahre 1932 eingeschleppt, als die Gemeinde auf ihre Jungviehweide mehrere schwarzbunte, tragende Jungtiere einer auswärtigen Abmelkwirtschaft aufgenommen hatte, die auf der Weide verkalbten. Die Vorgänge kamen erst Anfang 1934 zur amtlichen Kenntnis, als bereits 86 Hinterwälderrinder verkalbt hatten. Die Bruzellose nahm einen ausgesprochen seuchenhaften Verlauf; bei der nunmehr amtlich angeordneten Blutuntersuchung der damals rund 1000 Rinder erwiesen sich 262 = 26 % als serologisch positiv. Bis zum

Winter 1936 hatten 119 Tiere verkalbt, die Blutuntersuchung verlief jetzt bei rund 30 % der in der Gemeinde vorhandenen Rinder positiv. Die in einem 6 km langen Hochtal gelegene Gemeinde besteht aus 9 einzelnen, weit auseinander liegenden Dörfern, von denen jedoch zunächst nur 3 verseucht waren, die übrigen 6 waren noch frei. Zur Zeit meiner Untersuchungen im Frühjahr 1937 waren 4 Ortsteile verseucht, die übrigen 5 zeigten nur sporadische positive Reaktionen; die betreffenden Tiere sind sofort ausgemerzt worden.

Das Ergebnis der Untersuchungen wird in der Uebersicht auf Seite 26/27 dargestellt.

In den Seuchendörfern interessierte nunmehr in erster Linie die Uebereinstimmung der Frischblutschnellagglutination mit dem Ergebnis der Langsamagglutination nach der positiven Seite hin. Wie aus der Tabelle hervorgeht, ist die Langsamagglutination in 28 Fällen mit dem Titer 1:100 positiv verlaufen. 50 Proben ergaben eine Agglutination in der Verdünnung 1:50, wobei gleichzeitig auch die Komplementbindung bzw. die Flockungsreaktion positiv ausschlug. Das Ergebnis der Frischblutschnellagglutination stimmte hiermit nicht völlig überein; in 2 Fällen positiver Langsamagglutination mit dem Titer 1:100 sowie in 17 Fällen positiver Langsamagglutination mit dem Titer 1:50, jedoch gleichzeitiger positiver Komplementbindung bzw. Flockungsreaktion, versagte die Frischblutschnellagglutination und verlief völlig negativ. Von den insgesamt 78 positiven Blutproben der Langsamagglutination wurden somit nur 58 = 74 % auch durch die Frischblutschnellagglutination erfaßt (55 Reaktionen positiv, 3 Reaktionen verdächtig).

Auch nach der negativen Seite hin ergab sich keine völlige Uebereinstimmung. Die Langsamagglutination ist bei Einbeziehung der Titer 1:25 in 1090 Fällen negativ verlaufen; die Schnellagglutination jedoch nur in 991 Fällen. Sie war allein positiv bzw. verdächtig in 98 Fällen, in denen alle anderen Reaktionen negativ ausfielen. Die gröbste Abweichung ergab sich in der Gemeinde VII, wo 68 positiven Schnellagglutinationen nur 8 positive Langsamagglutinationen, 10 positive Komplementbindungen, 10 positive Meinicke-Reaktionen und 27 positive Sachwehl-Reaktionen gegenüberstehen. Es muß eingeräumt werden, daß hierbei möglicherweise ein technischer Fehler unterlaufen ist, wenn auch der allerdings großenteils nur schwach positive Ausfall der Schnellagglutination scheinbar zweifelsfrei feststand.

Darüber hinaus jedoch war die Frischblutschnellagglutination in 14 Fällen übereinstimmend mit der Komplementbindung bzw. der Flockungsreaktion positiv, während die Langsamagglutination negativ verlief; hinzu kommen weitere 6 Fälle zweifelhaften Verlaufs der Frischblutschnellagglutination ebenfalls bei gleichzeitigem positivem Ausfall der Komplementbindung bzw. der Flockungsreaktionen.

Tabelle II.

Zahl der Blutproben	Ergebnis der Schnellagglutination			Langsamagglutination			Ergebnis der Kom.-Bd.		Meinicke	Sachweh	Uebereinstimmung bei allen Reaktionen	
	+	—	±	1:100	1:50	1:25	—	+	+	+	+	—
Gemeinde VII												
331	68	241	22	4	4	5	318	10	10	27	6	173
Gemeinde VIII												
Ortsteil A												
83	12	70	1	5	4	20	54	18	21	12	10	65
Ortsteil B												
47	9	37	1	1	3	10	33	9	6	7	5	32
Ortsteil C												
217	37	172	8	9	28	74	106	71	68	97	7	75
Ortsteil D												
89	14	73	2	8	9	31	41	24	17	27	4	38
Ortsteil E												
45	1	44	—	—	—	1	44	—	6	1	—	44
Ortsteil F												
55	1	54	—	1	—	1	53	4	3	9	1	53
Ortsteil G												
86	—	86	—	—	—	20	66	2	1	6	—	86
Ortsteil H												
120	1	119	—	—	1	26	93	1	1	30	1	119
Ortsteil I												
95	—	95	—	—	1	5	89	1	—	4	—	95
Summe:												
1168	143	991	34	28	50	193	897	140	133	190	34	780

Die Tabelle läßt weiter erkennen, daß die Frischblutschnellagglutination in den praktisch kaum verseuchten Ortsteilen E, F, G, H und J in Uebereinstimmung mit der Langsamagglutination nur wenige Versager gezeitigt hat, und ferner, daß die Uebereinstimmung aller Reaktionen im ganzen nur sehr mäßig war. Nach der positiven Seite stimmten nur 34, nach der negativen 780 überein; 354 Fälle waren abweichend. Schließlich ist ersichtlich, daß die Fälle positiver Schnellagglutination noch am besten mit den positiven Ergebnissen der Komplementbindung übereinstimmen, die 63mal stark und 77mal schwach positiv verlaufen ist.

Die hauptsächlichsten Befunde lassen sich demnach wie folgt zusammenfassen:

Tabelle II

Verlauf der übrigen Reaktionen bei positiver Schnellagglutination:

Langsam-agglutination				Meinicke			Sachweh			Kompl.-Bindg.		
:100	1:50	1:25	—	st. positiv	schw.	—	st. positiv	schw.	—	st. positiv	schw.	—
4	4	6	54	5	1	62	10	13	45	10	57	1
5	3	3	1	3	6	3	9	—	3	9	3	—
1	3	2	3	4	3	2	6	1	2	7	2	—
7	15	6	9	20	4	13	23	5	9	23	13	1
8	5	1	—	8	2	4	12	1	1	12	1	1
—	—	—	1	—	—	1	—	—	1	—	1	—
1	—	—	—	1	—	—	1	—	—	1	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	1	—	—	1	—	—	1	—	—	1	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
26	31	18	68	42	16	85	62	20	61	63	77	3

st. = stark; schw. = schwach.

1. Von 78 bei der Langsamagglutination positiven Proben waren 58 auch bei der Schnellagglutination positiv (3 davon verdächtig).
2. Von 28 Fällen positiver Langsamagglutination mit dem Titer 1:100 versagte die Frischblutschnellagglutination 2mal, von 50 Fällen positiver Langsamagglutination mit dem Titer 1:50, aber gleichzeitiger positiver Komplementbindung bzw. Flockungsreaktion zeitigte die Frischblutschnellagglutination 17 Versager.
3. Die Frischblutschnellagglutination allein war in 98 Fällen positiv bzw. verdächtig, in denen alle anderen Reaktionen negativ verliefen.
4. Die Frischblutschnellagglutination verlief 14mal positiv und 4mal verdächtig, während die Komplementbindung bzw. die Flockungsreaktion positiv, die Langsamagglutination jedoch negativ war.

c) Ergebnisse der infizierten Einzelbestände.

Die Untersuchungen wurden schließlich durch Einbeziehung von 11 mehr oder weniger stark verseuchten Einzelbeständen ergänzt. Hierdurch war die erwünschte Gelegenheit gegeben, die Möglichkeiten für die Schnellreaktion auch in etwas größeren Beständen zu prüfen. Die Einschleppung der Infektion in die Bestände lag großenteils jahrelang zurück, und nur in wenigen Fällen war die Seuche erst in der letzten Zeit stärker aufgetreten. Vereinzelt war in den Beständen auch geimpft worden. Die Art des verwendeten Impfstoffes konnte jedoch nicht mehr ermittelt werden, da der betr. Kollege verstorben ist. Durchweg waren die Bestände vor kurzem schon einmal durchuntersucht worden, sodaß für meine eigenen Versuche bereits Anhaltspunkte gegeben waren. Sie wurden wiederum neben der Frischblutschnellagglutination unter Anwendung der Langsamagglutination, der Komplementbindung und den Flockungsreaktionen nach Meinicke und Sachweh durchgeführt. Das Beispiel einer derartigen Untersuchung wird in Form des Protokolls für den Bestand „Mu." im folgenden wiedergegeben.

Tabelle III.

Lfd. Nr.	Ohrmarke	Schnellagglut.	Langsamagglut.	Kompl.-Bindg.	Meinicke-Reaktion	Sachweh-Reaktion
1.	509	+++	1:100	+++	+	+++
2.	510	—	—	—	—	+++
3.	500	±	—	—	+++	+++
4.	511	++	1:25	+++	+++	+++
5.	512	±	—	—	+++	+++
6.	65	+	—	—	—	—
7.	508	—	—	—	—	—
8.	1650	++	1:25	—	+++	—
9.	2291	+++	1:50	+++	+++	+++
10.	1649	++	—	—	+++	+++
11.	62	+++	1:100	+++	+++	+++
12.	254	+++	1:25	+++	+	+++
13.	507	+++	—	+++	++	—
14.	2067	+++	1:50	+++	+++	+++
15.	33	+++	1:50	+++	+++	+++
16.	66	+++	1:50	+++	—	+++

Zeichenerklärung:
+++ = stark positiv
++ = positiv
+ = schwach positiv
± = zweifelhaft
— = negativ

Die in den übrigen Einzelbeständen wie auch bei der Durchuntersuchung ganzer Ortschaften in gleicher Weise vorgenommenen Versuche

werden nicht im einzelnen wiedergegeben. Ihre Resultate sind in der Uebersicht auf Seite 30/31 zusammengefaßt.

Von den im ganzen untersuchten 365 Blutproben wurden somit durch die Langsamagglutination 43 als positiv erkannt; in 18 Fällen war der Titer 1:100, in 25 Fällen 1:50 bei gleichzeitig positivem Verlauf der Komplementbindung bzw. der Flockungsreaktionen. Von diesen 43 positiven Proben erfaßte die Frischblutschnellagglutination 42, da sie bei einer Probe mit dem Titer 1:50 versagte. Die Uebereinstimmung nach der positiven Seite betrug demnach rund 98 %.

Im ganzen ist die Schnellagglutination jedoch in 136 Fällen positiv und in 19 Fällen verdächtig verlaufen. Abgesehen von den bereits erwähnten 43 Fällen von Uebereinstimmung mit der Langsamagglutination, teilen sich die übrigen 93 positiven Schnellreaktionen wie folgt auf: Bei 16 Proben war die Frischblutschnellagglutination bei negativem Verlauf aller übrigen Reaktionen allein positiv; hinzukommen 5 Fälle, in denen sie in analoger Weise allein verdächtig war. Bei 77 Proben dagegen ist neben der positiven Schnellreaktion auch die Komplementbindung bzw. die Flockungsreaktion positiv ausgefallen, während die Langsamagglutination negativ verlief; hinzu kommen schließlich 15 Blutproben mit verdächtigem Ausfall der Frischblutschnellagglutination und gleichzeitiger positiver Komplementbindung bzw. Flockungsreaktion bei negativem Verlauf der Langsamagglutination.

Bei der Untersuchung der Einzelbestände ist somit einmal eine recht gute Uebereinstimmung der Ergebnisse bei Langsamagglutination und Frischblutschnellagglutination festzustellen, während andererseits aber die Zahl der bei der Frischblutschnellagglutination allein positiven bzw. verdächtigen 21 Reaktionen, die durch die übrigen Untersuchungsmethoden nicht bestätigt wurden, beachtlich ist; weit größer jedoch ist noch die Zahl von 92 positiven bzw. negativen Frischblutschnellagglutinationen mit gleichzeitiger positiver Komplementbindung bzw. Flockungsreaktion.

Ich möchte aus diesen von der Langsamagglutination abweichenden Resultaten keinen Schluß zu Ungunsten der Frischblutschnellagglutination ziehen; Versuchsfehler dürften hier nicht in Frage kommen, da die Untersuchungstechnik in der Zeit dieser Untersuchung einwandfrei beherrscht wurde. Wie erwähnt, war außerdem meinen Versuchen bereits eine andere Untersuchung der Bestände seitens des Instituts mittels der Laboratoriumsreaktionen vorausgegangen; der Vergleich beider Ergebnisse spricht für die Zuverlässigkeit der in meinen Versuchen gewonnenen Resultate bei Komplementbindung und Flockungsreaktionen zu Ungunsten der Langsamagglutination und zu Gunsten einer größeren Erfassungsbreite der übrigen Reaktionen, einschließlich der Frischblutschnellagglutination.

Auch von anderen Autoren (Feldt [13], Pröscholdt [31], Fröhle [14]) ist in letzter Zeit auf die im Vergleich mit den Flockungs-

Tabelle IV.

Zahl der Blutproben	Ergebnis der Schnellagglutination			Langsamagglutination			Ergebnis der Kom.-Bd.		Meinicke	Sachweh	Uebereinstimmung bei allen Reaktionen	
	+	—	±	1:100	1:50	1:25	—	+	+	+	+	—
Best. Al. 31	7	22	2	—	1	5	25	12	17	21	5	7
Best. Ka. 41	21	19	1	—	2	9	30	21	13	13	2	8
Best. Ha. 48	5	40	3	3	1	12	32	7	9	18	5	21
Best. Dr. 15	5	10	—	2	—	4	9	5	5	8	2	5
Best. La. 31	9	21	1	2	1	5	23	9	12	25	5	5
Best. Ru. 42	19	22	1	2	7	5	28	13	17	19	10	14
Best. Br. 34	12	22	—	1	4	5	24	11	12	20	4	9
Best. Ed. 31	13	17	1	—	1	3	27	9	8	16	3	11
Best. Se. 39	21	11	7	1	3	13	22	23	11	24	7	5
Best. Ho. 37	12	24	1	5	1	4	27	15	14	20	5	12
Best. Mu. 16	12	2	2	2	4	3	7	9	9	12	5	1
Summe: 365	136	210	19	18	25	68	254	134	127	196	53	98

reaktionen erheblich geringere Reichweite der Langsamagglutination hingewiesen worden.

Die Uebereinstimmung aller Reaktionen war folgende: 53 Proben waren übereinstimmend positiv, 98 übereinstimmend negativ; die übrigen 214 waren abweichend. Die stärkste Uebereinstimmung der positiven Fälle bei der Schnellagglutination war wiederum mit der Komplementbindung festzustellen.

Ein zusammenfassender Ueberblick über die Ergebnisse gestaltet sich wie folgt:

1. Von 43 bei der Langsamagglutination positiven Proben waren 42 auch bei der Schnellagglutination positiv.

Tabelle IV

Verlauf der übrigen Reaktionen bei positiver Schnellagglutination

Langsam-agglutination				Meinicke			Sachweh			Kompl.-Bindg.		
:100	1:50	1:25	—	st. positiv	schw. positiv	—	st. positiv	schw. positiv	—	st. positiv	schw. positiv	—
—	1	4	2	5	—	2	5	—	2	5	—	2
—	2	8	11	8	8	5	6	6	9	12	6	3
3	1	1	—	5	—	—	5	—	—	5	—	—
2	—	2	1	3	2	—	4	1	—	4	—	1
2	1	2	4	7	—	2	8	—	1	8	1	—
2	7	4	6	16	1	2	14	1	4	13	4	2
1	4	2	5	9	1	2	10	1	4	9	2	1
—	1	3	9	7	3	3	10	1	2	6	3	4
1	3	13	4	10	2	9	14	3	4	19	2	—
5	1	—	6	6	1	5	8	—	4	7	5	—
2	4	3	3	7	3	2	9	—	3	9	3	—
18	25	42	51	83	21	32	93	13	30	97	26	13

st. = stark; schw. = schwach

2. Von 18 Fällen positiver Langsamagglutination mit dem Titer 1:100 versagte die Frischblutschnellagglutination keinmal, von 26 Fällen positiver Langsamagglutination mit dem Titer 1:50 aber gleichzeitiger positiver Komplementbindung bzw. Flockungsreaktion zeitigte die Frischblutschnellagglutination nur 1 Versager.
3. Die Frischblutschnellagglutination allein war in 16 Fällen positiv, in denen alle anderen Reaktionen negativ verliefen.
4. Die Frischblutschnellagglutination zeitigte 77 positive und 15 verdächtige Ergebnisse, während gleichzeitig die Komplementbindung bzw. die Flockungsreaktion positiv war, die Langsamagglutination jedoch negativ verlief.

d) Uebersicht der Gesamtergebnisse.

Die Ergebnisse aller 3 Versuchsreihen sind der folgenden Tabelle nochmals übersichtlich dargestellt.

	Zahl der Blut-proben	Ergebnis der Schnellagglu-tination			Ergebnis der Langsam-agglutination				Kompl.-Bdg.	Mein.-Reakt.	Sachw.-Reaktion
		+	—	±	1:100	1:50	1:25	—	+	+	+
I.	3319	24	3278	17	—	29	634	2656	2	—	—
II.	1168	143	991	34	28	50	193	897	140	127	190
III.	365	136	210	19	18	25	68	254	134	127	196
Summe:	4852	303	4479	70	46	104	895	3807	276	260	386

Insgesamt war somit die Langsamagglutination in 46 Fällen mit dem Titer 1:100 positiv und in 104 Fällen mit dem Titer 1:50 verdächtig, wobei in 75 Fällen auch die Komplementbindung bzw. die Flockungsreaktion positiv verlief. Es sind demnach 121 Tiere auf Grund des Ergebnisses der Langsamagglutination als positiv anzusprechen. Demgegenüber ist die Schnellagglutination in 303 Fällen positiv und in 70 Fällen zweifelhaft verlaufen. Eine ähnlich hohe Zahl positiver Ausschläge zeitigte lediglich die Sachweh-Reaktion in 386 Fällen, während die Meinicke-Reaktion nur 260mal und die Komplementbindung 276mal positiv waren. Die Uebereinstimmung zwischen positiver Schnellagglutination und Langsamagglutination, die aus der Tabelle nicht zu ersehen ist, war bei 98 Proben gegeben. Hinzu kamen 3 Proben, die bei der Langsamagglutination positiv und bei der Schnellagglutination zweifelhaft waren.

D. Besprechung der Ergebnisse.

Die Versuche sollten an Hand eines Materials von 4852 untersuchten Rindern ein Urteil über die Zuverlässigkeit und die Möglichkeit der praktischen Verwendung der Frischblutschnellagglutination ermöglichen. Die untersuchten Tierbestände stammten aus 6 bruzellosefreien Gemeinden, ferner aus 2 verseuchten Ortschaften und aus 11 infizierten Einzelbeständen.

Als Maßstab für die Reaktion eines Tieres galt in erster Linie das Ergebnis der Langsamagglutination. Sämtliche Proben wurden jedoch gleichzeitig auch mit der Komplementbindung und 1533 Proben außerdem mit der Flockungsreaktion nach Meinicke und nach Sachweh parallel geprüft.

Im ganzen wurden 4852 Einzelproben untersucht, von denen sich 121 durch das Ergebnis der Langsamagglutination als positiv mit dem Titer 1:100 oder als verdächtig mit dem Titer 1:50 herausstellten; im letzteren Falle jedoch war die Komplementbindung und die Flockungsreaktion bzw. eine dieser Reaktionen eindeutig positiv. Die Untersuchungen hatten sich hauptsächlich darauf zu erstrecken, wie weit diese 121 bei der Serumlangsamagglutination als Standardmethode positiven Tiere auch durch die Frischlutschnellagglutination erfaßt wurden. Letztere ist nur in 98 Fällen positiv, 3mal verdächtig und in 20 Fällen einwandfrei negativ verlaufen. Bei den 46 Proben mit dem Titer 1:100 hatte sie zweimal, bei 75 Proben mit dem Titer 1:50 dagegen 18mal völlig versagt. Es waren somit 20 eindeutige Fehlergebnisse bei 121 durch die Laboratoriumsuntersuchung unzweifelhaft als positiv erkannten Blutproben zu verzeichnen, das sind 16 % Versager auf die 121 positiven Proben bezogen, oder 0,41 % Versager mit Bezug auf die Gesamtzahl von 4852 Proben.

Auch nach der negativen Seite stimmte die Schnellagglutination mit dem Ergebnis der Serumlangsamagglutination nicht überein. Es waren nach dem Ergebnis der Langsamagglutination 4731 Proben als negativ bzw. zweifelhaft anzusehen. Die Schnellagglutination ist, wenn auch großenteils nur mit schwacher Reaktion, in 114 Fällen positiv verlaufen, in denen die Langsamagglutination allenfalls mit dem Titer 1:25 positiv, im allgemeinen aber ebenso wie die anderen Reaktionen negativ war. Das sind von den 4852 untersuchten Proben 2,3 % Versager nach der negativen Seite, wobei sich also die Schnellagglutination gegenüber den anderen Reaktionen einschließlich der Langsamagglutination als zu empfindlich erwies.

Die Ergebnisse wurden in verseuchten Beständen bzw. Gemeinden erzielt, in denen die betreffenden Tiere immerhin vielleicht Gelegenheit hatten, mit dem Erreger in Berührung zu kommen. Die Möglichkeit wird allerdings zugegeben, daß ein Teil der Fehlergebnisse auch auf technische Fehler zurückzuführen ist. Ein positiver Ausschlag kann nach meinen Erfahrungen schon durch geringe Versehen der Technik vorgetäuscht werden. Hierher gehört vor allem die Verwendung nicht frisch hergestellter oder sonst ungeeigneter Oxalatlösung.

Hinzutreten weitere 91 Fälle, in denen wiederum die Schnellagglutination im Gegensatz zur Langsamagglutination positiv verlaufen ist, diesmal aber mit dem gleichzeitig positiven Ausfall der Komplementbindung der der Flockungsreaktion bzw. mindestens einer dieser Reaktionen parallel ging. Ein analoges Verhältnis war sodann in 19 Fällen gegeben, in denen die Schnellagglutination ein zweifelhaftes bzw. verdächtiges Ergebnis lieferte, während die Langsamagglutination negativ, die Komplementbindung bzw. die Flockungsreaktion jedoch eindeutig positiv waren.

Ich möchte diese letzteren 110 Fälle, in denen die Schnellagglutination in Uebereinstimmung mit Komplementbindung und Flockungsreaktion, jedoch im Gegensatz zur Langsamagglutination einen positiven bzw. verdächtigen Ausschlag gab, nicht als Fehlergebnis, sondern als Beweis dafür ansehen, daß die Schnellagglutination geeignet ist, ganz frische und sehr alte Infektionsfälle noch zu ermitteln, die von der Langsamagglutination nicht gefaßt werden. Diese Ansicht wird durch die Tatsache gestützt, daß die erwähnten 110 Proben durchweg in verseuchten Beständen festgestellt wurden. Auch ist in einem dieser Fälle 3 Tage nach der Untersuchung Abortus eingetreten, wobei Bangbakterien in den Eihäuten nachzuweisen waren.

Das Interesse galt weiterhin der Frage, ob die Frischblutschnellagglutination auch in Dörfern, deren Bestände auf Grund der Vorgeschichte und des Ausfalls der übrigen serologischen Reaktionen praktisch als bruzellosefrei anzusehen sind, positive bzw. verdächtige Reaktionen in nennenswertem Umfang zeitigt oder nicht. Aus derartigen unverseuchten Ortschaften wurden 3319 Blutproben untersucht, wobei die Schnellagglutination 24mal positiv und 17mal zweifelhaft verlaufen ist, das sind 1,2 % der untersuchten Fälle. Es handelte sich hierbei um nur einer Ausnahme um lediglich schwache Ausschläge, und nur in einem der zweifelhaften Fälle war gleichzeitig auch die Langsamagglutination in der Verdünnung 1:50 verdächtig, während die übrigen Laboratoriumsreaktionen durchweg negativ verliefen.

Als gewisser Nachteil ist es anzusehen, daß bei den untersuchten Proben verhältnismäßig wenig positive waren, was durch die verhältnismäßig geringe Seuchendichte in Baden zu erklären ist. Auf Grund der Ergebnisse kann jedoch gesagt werden, daß sich die Frischblutschnellagglutination der Langsamagglutination zwar nicht als überlegen erwiesen hat, daß sie aber geeignet ist, letztere zu ergänzen. Namentlich in Seuchenbeständen gestattet sie einen schnellen Ueberblick und ist deshalb als wertvolle Unterstützung der Laboratoriumsuntersuchung zu betrachten. Ihre große Reichweite ist hier geeignet, die infizierten Tiere auch in Krankheitsstadien zu erfassen, in denen die Langsamagglutination versagt. Die Anschaulichkeit der sehr schnell und auch für den Laien in sinnfälliger Weise auftretenden Reaktion ist damit ein psychologisch wertvolles Hilfsmittel für die tierärztlichen Bestrebungen bei der Sanierung von Seuchenbeständen.

Für die Zwecke der Veterinärpolizei, wobei ein positives Ergebnis unter Umständen wirtschaftlich einschneidende Folgen nach sich zieht, wie etwa bei Verkaufsuntersuchungen, besitzt jedoch die Schnellagglutination bisher nicht die wünschenswerte Zuverlässigkeit, auch nicht in der Hand des Geübten. Positive und zweifelhafte Ergebnisse sind hier auf alle Fälle durch die Laboratoriumsreaktionen nachzuprüfen. Die Frischblutschnellagglutination könnte höchstens in den Fällen am Platze sein, in denen eine rechtzeitige Laboratoriumsuntersuchung aus irgend-

welchen Gründen nicht stattgefunden hat, etwa beim Auftrieb auf Versteigerungen, Märkten und Weiden.

Auf jeden Fall muß verlangt werden, daß die Reaktion nur von hinreichend geschulten Tierärzten mit einer einheitlichen Testflüssigkeit und derselben übereinstimmenden Methodik ausgeführt wird. Im ganzen betrachte ich die Reaktion jedoch lediglich als Notbehelf und bin mit Zeller und mit Götze der Ansicht, daß die serologischen Untersuchungen zum Nachweis der Bruzellose Sache des Laboratoriums sind.

E. Zusammenfassung der Ergebnisse.

Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Von 4852 Blutproben wurden 121 durch die Serumlangsamagglutination als positiv ermittelt. Von diesen positiven Fällen erfaßte die Frischblutschnellreaktion 98 Proben; 3 Fälle waren zweifelhaft und 20 Fälle waren einwandfrei negativ, das sind 16 % Versager.
2. Den 20 Versagern der Schnellagglutination nach der positiven Seite stehen 114 Fälle = 2,3 % der untersuchten Proben gegenüber, wobei die Schnellagglutination nach der negativen Seite versagte, d. h. allein positiv ausfiel im Gegensatz zu dem negativen Befund aller anderen Reaktionen. Diese Ergebnisse wurden in Seuchenbeständen bzw. in verseuchten Dörfern erzielt. Bei der Untersuchung von 3319 Blutproben aus unverseuchten Gemeinden war die Schnellagglutination 24mal positiv und 17mal zweifelhaft, das sind 1,2 % der dort untersuchten Fälle.
3. Bei 110 Proben aus verseuchten Beständen verlief die Schnellagglutination im Gegensatz zur negativen Langsamagglutination, aber in Uebereinstimmung mit dem Ergebnis der Komplementbindung und Flockungsreaktion positiv bzw. verdächtig. Hierin ist nicht ein Versagen, sondern ein Beweis für die größere Erfassungsbreite der Schnellagglutination in Seuchenbeständen zu erblicken.
4. Ohne Berücksichtigung dieser 110 Fälle zeitigte die Schnellagglutination somit 134 Versager nach der positiven oder negativen Seite, das sind rund 2,8 % der Gesamtproben.

F. Schriftverzeichnis.

1. **Bass, C. C.** und **Watkins, J. A.**: A quick macroscopic typhoid agglutination test. Arch. Int. Med. 6, 717, (1910).
2. **Bevan, L. E. P.**: Zit. nach Larisch.
3. **Buneya, H., Hall, W. J.** und **M. Dorset**: A simplified agglutination test for pullorum disease. Journ. Amer. Vet. Medic. Ass. 75, 408 (1929).
4. **Curschmann**: Zit. nach Zeller.
5. **Damon, S. R.**: A comparison of the rapid and slow agglutination methods for the diagnosis of Bang abortion disease in cattle. Amer. Vet. Med. Assoc. 75, 761 (1929).
6. **David, H.**: Wiener Tierärztl. Mschr. 1934, 193. Zit. nach Larisch.
7. **Diernhofer, K.**: Eine in der Praxis ausführbare Schnellmethode zur Ermittlung bruzellainfizierter Tiere. Wien. Tztl. Mschr. 1933, 753.
8. **Derselbe**: Erfahrungen mit der Bang-Schnellagglutination in der Praxis. Münch. Tierärztl. Wschr. 1936, 361.
9. **Donham** und **Fitch**: Zit. nach Miller.
10. **Dubois, Ch.** und **Noël Sollier**: Dépistage des foyers ignorés de brucellose animals par la pratique du séro-diagnostic de Wright effectué sur les animaux sacrifiés pour la boucherie. Serv. Vétérin. du Gard, Nîmes, Rev. d'Hyg. 53, 423 (1931).
11. **Ekrem, A.**: Bildung von Brucella-Agglutininen beim Meerschweinchen. Diss. Hannover 1932.
12. **Eickmann** und **T. Eschbaum**: Nachprüfung der Flockungsreaktion zum Nachweis des seuchenhaften Verkalbens nach Sachweh. Dtsche. Tztl. Wschr. 45, 101 (1937).
13. **Feldt, C.**: Die Meinickesche Flockungsreaktion im Vergleich zur Agglutination und Komplementbindung zur Diagnose der Abortus-Bang-Infektion des Rindes. Diss. Leipzig 1937.
14. **Fröhle, O.**: Die Brauchbarkeit der Sachweh-Reaktion zum Nachweis der Banginfektion. Diss. München 1938.
15. **Götze, R.**: Ueber die Durchführung des Absonderungs- und Ausmerzungsverfahrens für die Bekämpfung der Rinderbruzellose in verseuchten Beständen. Berl. Tztl. Wschr. 1938, 141.
16. **Graham, R.** und **Thorp, F.**: A comparison of the results of the standard macroscopic agglutination test and Huddleson's rapid method in the serologic diagnosis of Brucella infection disease of cattle. Journ. Amer. Vet. Medic. Ass. 76, 653 (1930).

17. **Dieselben:** The results of the field-agglutination test for Bang Disease. Journ. of the Amer. Vet. Ass. **77**, 169 (1930).

18. **Gwatkin:** The rapid macroscopic agglutination test for Bangs Disease. Journ. of the Amer. Vet. Ass. **78**, 88 (1931).

19. **Van der Hoeden:** Zit. nach Zeller.

20. **Huddleson, J. F.** und **Carlson, E. R.:** A rapid method of performing of the agglutination test in the serum diagnosis of Bang's abortion disease in cattle. Journ. Amer. Vet. Medic. Ass. **70**, 229 (1926).

21. **Huddleson** und **Abell:** Rapid macroscopic agglutination for the serum diagnosis of Bangs abortion disease. Journ. of Inf. Dis. **42**, 242 (1928).

22. **Jones, F. S.:** The value of macroscopic agglutination test in detecting fowls that are harbouring Bacterium pullorum. Journ. Med. Res. **27**, 481 (1913).

23. **Klimmer, M.** und **Vogel, H.:** Die Vollblut- und Schnellagglutination bei Abortus-Bang. Tztl. Mitt. **18**, 4 (1937).

24. **Kutzner, W.:** Diss. München 1932. Zit. nach Miller.

25. **Lehnhardt, H.:** Beitrag zur Agglutination des infektiösen Abortus. Diss. Leipzig 1936.

26. **Lienhardt, H. F.** und **C. H. Kitselmann:** Correlation of the rapid and the long agglutination tests for infectious abortion of cattle. Journ. Amer. Vet. Medic. Ass. **73**, 328 (1928).

27. **Mießner, H.** und **R. Berge:** Schnellagglutinationsmethoden zur Erkennung der Pulloruminfektion beim Huhn. Dtsche. Tztl. Wschr. **38**, 401 (1930).

28. **Mießner, H.** und **G. Schütt:** Technik der Frischblutschnellagglutination zum Nachweis der Pulloruminfektion der Hühner. Dtsche. Tztl. Wschr. **39**, 3 (1931).

29. **Miller, A.:** Die Frischblut- und Serumschnellagglutination nach Diernhofer zum Nachweis der Banginfektion des Rindes. Diss. München 1936.

30. **Poppe, K.:** Pathogenese und Bekämpfung der Brucellose des Menschen. Bekämpfung d. Aufzuchtkr. 8. Sammelber. Hannover 1937, 164.

31. **Pröscholdt, O.:** Die Klärungs- bezw. Flockungsreaktion zur Feststellung der Banginfektion des Rindes. Dtsche Tztl. Wschr. **45**, 104 (1937).

32. **Sachweh, P.:** Ueber eine Seroreaktion mit Meinicke-Klärungsreaktion zum Nachweis der Abortus-Bang-Infektion der Kühe. Tztl. Rdsch. **38**, 22 (1932).

33. **Derselbe:** Ueber eine Flockungsreaktion zum Nachweis des seuchenhaften Verkalbens. Dtsche Tztl. Wschr. **43**, 675 (1935).

34. **Derselbe:** Zur Frage der Flockungsreaktion. Dtsche Tztl. Wschr. **45**, 247 (1937).

35. **Sandner:** Inaug.-Diss. München 1934. Zitiert nach Miller.

36. **Steenblock:** Beitrag zur Methodik der Frischblutschnellagglutination auf Pulloruminfektion unter Verwendung eines neuen Agglutinationstisches. Tztl. Rdsch. **36**, 881 (1930).

37. **Trautwein, K.:** Erfahrungen bei der Bekämpfung der Bruzellose. Dtsche Tztl. Wschr. **44**, 783 (1936).

38. **Wagener, K.:** Neue Methodik der Blutuntersuchung auf Kükenruhr für Laboratorium und Praxis. Tztl. Rdsch. **36**, 477 (1930).

39. **Wolenk, H.:** Beitrag zur Allergie bei Abortusinfektion der Rinder und Pferde. Diss. Leipzig 1935.

40. **Zeller, H.:** Neuere Forschungsergebnisse über Bruzellen und Bruzellose. Münch. Tztl. Wschr. **84**, 337 (1933).

41. **Zeller, H.:** Das Ergebnis der staatlichen Untersuchung über die Ausbreitung der Bruzellose des Rindes. Bekämpfung d. Aufzuchtkr. 8. Tagung, Hannover 1937.

42. **Zeynelabidin, H.:** Prüfung der Schnellagglutination für die Diagnostik des infektiösen Abortus des Rindes. Dtsche Tztl. Wschr. **41**, 388 (1933).

43. **Zimmer, W.:** Untersuchungen über Mittel, die eine vollständige, niederschlagsfreie Blutlösung ergeben, ohne dabei die Agglutination auf Bangsche Bakterien zu stören. Diss. Leipzig 1936.

44. **Zrodowsky, P.:** Arbeiten der Expedition über Erforschung der Schafbruzellose (1933—1936). Berl. Tztl. Wsch. **1938**, 415.

G. Lebenslauf.

Ich, Herbert Köbele, wurde am 31. Juli 1912 in Freiburg i. Br. als Sohn des damals in Ihringen a. K. ansäßigen Tierarztes Dr. Wilhelm Köbele und seiner Ehefrau Amalie geb. Pfeifer geboren. Nach 3 Jahren Volksschule trat ich im Jahre 1921 in die Oberrealschule in Meßkirch ein. Nach dem Besuch der Oberrealschulen Pfullendorf, Freiburg i. Br. und Singen legte ich im Jahre 1932 an der Oberrealschule Lahr/Baden die Reifeprüfung ab. Sommersemester 1932 begann ich mein Studium an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München. Das Wintersemester 1935 verbrachte ich an der Tierärztlichen Hochschule in Berlin, um im Dezember 1936 in München das Staatsexamen abzulegen.

Nach Ableistung meiner Schlachthoftätigkeit vom 15. Februar bis 15. Mai 1937 am Städt. Schlachthof in Freiburg i. Br. erhielt ich die Bestallung als Tierarzt.

Von Februar 1937 bis Oktober 1937 beschäftigte ich mich mit den Untersuchungen zu vorliegender Arbeit im Tierhygienischen Institut der Universität Freiburg i. Br. In den Monaten Oktober, November und Dezember 1937 nahm ich am Vorbereitungskurs für den staatstierärztlichen Dienst, der im Tierhygienischen Institut Freiburg stattfand, teil.

Vom 26. Januar bis 25. März 1938 genügte ich meiner Militärdienstpflicht in Eßlingen a. N.

Nach verschiedenen Vertretungen habe ich mich am 1. August 1938 in Altenheim bei Kehl a. Rhein als prakt. Tierarzt niedergelassen.